

[文章编号] 1007-3949(2003)11-05-0385-06

•实验研究•

新的植物雌激素 α 玉米赤霉醇明显抑制实验性 动脉粥样硬化发病进程

戴顺龄, 段金虹, 陆媛, 张仪华, 程锦轩, 赵小元¹, 吴云清, 张彦东, 余跃, 张琳, 左萍萍, 吴宜勇², 葛秦生³

(中国协和医科大学基础医学院, 中国医学科学院基础医学研究所, 北京 100005;

1. 首都儿科研究所, 北京 100021; 2. 北京医院妇产科, 北京 100730; 3. 北京协和医院妇产科, 北京 100730)

[关键词] 病理学与病理生理学; α 玉米赤霉醇的抗动脉粥样硬化作用; 动物实验; 雌二醇; 植物雌激素; 动脉粥样硬化

[摘要] 雌性激素具有抗动脉粥样硬化作用, 但具有明显的副作用, 近年争议尤甚。我们发现了一种新的植物雌激素 α 玉米赤霉醇, 并于 1996 年首次引进医学研究领域。为了探讨 α 玉米赤霉醇抗动脉粥样硬化与改善脂质代谢的作用并与雌激素进行比较, 将 60 只新西兰成熟未孕兔分成 7 组: 正常对照组 6 只, 普通饲料喂养; 假手术组 8 只, 作假手术; 高脂对照组 10 只, 小剂量玉米赤霉醇组 8 只, 中剂量玉米赤霉醇组 10 只, 大剂量玉米赤霉醇组 8 只, 雌二醇组 10 只; 上述各组除正常对照组和假手术组外, 均作了卵巢摘除术; 除正常对照组外均喂高脂饲料 12 周。在实验开始时和第 4、8、12 周时分别测定血清总胆固醇、甘油三酯、高密度脂蛋白胆固醇、低密度脂蛋白胆固醇、载脂蛋白 A1 和 B。实验结束时处死动物, 取主动脉标本, 油红 O 染色, 肉眼观察并用扫描仪测定兔主动脉内膜脂质斑块沉积面积与主动脉内膜总面积之比, 另取小块主动脉常规切片作病理观察。结果发现, 主动脉内膜脂质斑块与内膜总面积之比, 正常对照组为 0.02 ± 0.003 ; 假手术组为 0.42 ± 0.15 ; 高脂对照组为 0.67 ± 0.23 ; 小剂量玉米赤霉醇组为 0.61 ± 0.13 ; 中剂量玉米赤霉醇组为 0.10 ± 0.06 ; 大剂量玉米赤霉醇组为 0.32 ± 0.10 ; 雌二醇组为 0.12 ± 0.11 ; 后 3 组与高脂对照组比较, 差异有极显著性统计学意义 ($P < 0.01$)。病理观察发现, 正常对照组内皮正常完整, 未见泡沫细胞; 高脂对照组内皮脱落、坏死、大量泡沫细胞, 可见液化坏死及钙化点、内弹力板明显外移; 假手术组、中剂量玉米赤霉醇组、大剂量玉米赤霉醇组和雌二醇组上述病理变化明显减轻, 仅有少量泡沫细胞, 内皮基本正常。还发现高脂对照组血清总胆固醇、甘油三酯、低密度脂蛋白胆固醇和载脂蛋白 B 明显升高, 而假手术组、小、中、大剂量玉米赤霉醇组和雌二醇组均有下降, 以中、大剂量玉米赤霉醇组和雌二醇组明显。此结果提示, α 玉米赤霉醇可减少主动脉内膜脂质斑块沉积, 改善脂质代谢障碍, 改善高脂血症, 减轻病理变化。 α 玉米赤霉醇具有强有力的抗动脉粥样硬化作用, 此作用与 17β 雌二醇相似。

[中图分类号] R363

[文献标识码] A

A New Phytoestrogen α -Zearalanol Markedly Inhibits the Progression of Experimental Atherosclerosis

DAI Shun-Ling, DUAN Jin-Hong, LU Yuan, ZHANG Yi-Hua, CHENG Jin-Xuan, ZHAO Xiao-Yuan¹, WU Yun-Qing, ZHANG Yan-Dong, YU Yue, ZHANG Ling, ZUO Ping-Ping, WU Yi-Yong², GE Qin-Sheng³

(Faculty of Basic Medicine, Peking Union Medical College, Institute of Basic Medical Sciences, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100005; 1. Capital Institute of Pediatrics, Beijing 100021; 2. Department of Obstetric and Gynecology, Beijing Hospital, Beijing 100730; 3. Department of Obstetric and Gynecology, Peking Union Medical College Hospital, Beijing 100730, China)

[KEY WORDS] α -Zearalanol; Estrogen; Phytoestrogen; Atherosclerosis.[ABSTRACT] **Aim and Background** The beneficial effect of estrogen on atherosclerosis and related cardiovascular disease has been recognized, however there were obvious adverse side effect recently. This controversy were continued more intensely.

We found a new phytoestrogen α -Zearalanol (ZAL). Our lab first brought ZAL into medical research field to study its antiatherosclerosis effect. To examine the effect on atherosclerosis (As) development and serum lipid profile, and in comparison with estrogen, in order to provide a basic materials for future study.

Methods Sixty adult female New-Zealand rabbits were divided into 7 groups: normal control (NC) group ($n = 6$), sham-operated (SO) group ($n = 8$), high cholesterol control (HCC) group ($n = 10$), small dose ZAL (SDZ) group ($n = 8$), medium dose ZAL (MDZ) group ($n = 10$), large dose ZAL (LDZ) group ($n =$

[收稿日期] 2002-11-04 [修回日期] 2003-06-10

[基金项目] 国家自然科学基金(39870342)和卫生部基金(96-02-013和98-01-020)资助

[作者简介] 戴顺龄,女,1938年出生,南京人,1966年中国协和医大毕业,教授,从事心、肺血管疾病研究,1995年提出休克、ARDS发病机理的工作假说,1996年首次将ZAL引进医学领域并开始防治动脉粥样硬化实验研究,联系电话010-65284020(0)或010-65296476(0),E-mail为daishunling@PUMC.edu.cn。段金虹,女,1962年出生,北京人,北京医科大学本科毕业,主管技师,现在美国北达科他大学医学院工作。陆媛,女,1972年出生,硕士,现在清华大学所属博奥生物芯片公司工作。

8), 17 β -estrogen (E2) group ($n=10$). All groups except NC group and SO group were treated with oophorectomy; all groups except NC group were fed with high cholesterol for 12 weeks. At week 0, 4, 8, and 12, the serum lipid TC, TG, HDLC, LDLC, apolipoprotein A1 and B were measured. At feeding cholesterol week 12 the area of aortic intima lipid plaques to total area of aortic intima were evaluated by scanner and the pathologic changes were observed. **Results** The ratio of area of aortic lipid plaque to total area of aortic intima in NC group was 0.02 ± 0.003 , in SO group was 0.42 ± 0.15 , in HCC group was 0.67 ± 0.23 , in SDZ group was 0.61 ± 0.13 , in MDZ group was 0.10 ± 0.06 , in LDZ group was 0.32 ± 0.10 , in E2 group was 0.12 ± 0.11 (SO group, MDZ group, LDZ group, and E2 group four groups are compared with HCC group, $P < 0.01$). The serum contents of TC, TG, LDLC, apolipoprotein B in HCC group was significantly increased compared with the SO group, while those in MDZ groups, LDZ group, and E2 group, were significantly decreased compared with HCC group. The pathologic changes showed in NC group intact endothelial cell. In HCC group it showed severe endothelial cell damaging and falling off, liquid like necrosis, obvious outward shifting of intimal elastic layer, a large amount of foam cell and lipid plaque, necrosis and calcification. In SO group, in MDZ groups, LDZ group, and E2 group, aforementioned pathological alteration were significantly attenuated. **Conclusion** Administration of ZAL can decrease the area of aortic lipid plaque and markedly reduce the pathological changes and participate improvement and regulation of disturbance of lipid metabolism including the degree on hyperlipidemia. Phytoestrogen ZAL has a potentially important antiatherogen effect. Analogous to that observed with 17 β -estrogen in this model. Supported by national natural sciences Foundation of China (39870342) and Ministry of Health Foundation of China (98-01-020, 96-02-013). Corresponding author Tel 010-65284020, 010-65296476 E-mail daishunling@PUMC.edu.cn

动脉粥样硬化(atherosclerosis, As)所致心脑血管病变是威胁人类健康的首位疾病,雌激素对心脑血管的保护作用受到国内外学术界的关注^[1,2]。雌激素替代疗法的合理运用对于防治心脑血管疾病等老年病及提高生活质量已引起广泛重视,但由于其明显的副作用及使用欠科学性等问题,对其作用评价的争议,几十年来从未停止过。近年,美国有好几项大规模的流行病学调查研究结果对雌激素替代疗法在冠心病的防治中的作用提出了质疑,目前研究工作正在继续^[3,4]。但无论如何,寻找一种更为有效、安全的药物,无疑是人们所企盼的。我们找到一种新的植物雌激素 α 玉米赤霉醇(α Zearalanol, ZAL),本实验就是为探讨ZAL的抗As作用,并与雌激素在药效与安全性方面进行比较。

α 玉米赤霉醇(ZAL)是 α 玉米赤霉烯酮(α Zearalenone, ZEN)的还原产物。1962年Stab等^[5]首次报道自玉米赤霉培养液中分离出ZEN,证实它具有动物雌激素样效应。1975年证实ZAL的生物效应是ZEN的3倍且更安全。1987年后中英美科学家报道^[6,8]大量实验证实ZAL是高效、安全的。目前,美国、澳大利亚、新西兰等国已用作动物生长促进剂。

1980~1988年李季伦、孟繁静等^[9,10]相继发现并证实ZEN是植物中普遍存在的内源性激素,与高等植物生长发育有关,与冬小麦春化有关。

在上述发现启发下,我们设想:植物雌激素ZAL很可能具有动物雌激素某些生理功能包括防治As、老年性痴呆、早老性痴呆、骨质疏松,甚至可能有美容延寿等作用而副作用(主要是对子宫与乳腺的副作用)会比动物雌激素明显减少。并首次将ZAL引进医学研究领域,于1996年开始了ZAL对切除卵巢雌兔食饵性As的预防性治疗作用的实验研究。拟从整体、细胞与分子水平进行探讨。为证实药物作

用的可靠与确切,必需具有可重复性,为此在整体实验方面,我们做了一次预实验^[11]与二次正式实验均得到肯定结果,且结果一致。此为第二次整体实验的部份结果,这些结果是以后深入细胞分子生物学研究的依据与基础。

1 材料与方 法

1.1 主要药品

胆固醇(分析纯)为北京化学试剂公司生产;高胆固醇兔饲料由中国医学科学院实验动物研究所营养部制作;苯甲酸雌二醇(主要含17 β 雌二醇)由上海第九制药厂生产; α 玉米赤霉醇由中国农业大学生物学院李季伦院士提供。红O染料由瑞士FLU-KA公司生产。

1.2 实验动物及分组

60只3月足龄健康雌性纯种新西兰兔,体重为2.2~2.8kg,由中国药品生物制品检定所实验动物繁育场提供,动物实验条件符合一级标准。按血清总胆固醇(total cholesterol, TC)水平分为7组:正常对照组6只,假手术组8只,高脂对照组10只,小剂量ZAL组8只,中剂量ZAL组10只,大剂量ZAL组8只,雌二醇组10只。各组体重和TC水平无显著性差异。

1.3 切除卵巢家兔动脉粥样硬化模型的建立^[12,13]

除正常对照及假手术组外,上述各组均在无菌条件下行双侧卵巢切除术,一周后拆线。除正常对照组外,术后第10天开始,给予高胆固醇饲料[含胆固醇0.2g/(kg·d)和纯植物油0.5mL/(kg·d)];同时,小剂量ZAL组给予ZAL 0.1mg/(kg·d);中剂量ZAL组给予ZAL 0.5mg/(kg·d);大剂量ZAL组给予ZAL 2.5mg/(kg·d);雌二醇组给予17 β 雌二醇0.5

mg/(kg·d);继续喂养 12 周后放血处死。

1.4 主动脉标本制备、粥样斑块染色及面积测定

小心剥离自升主动脉至髂动脉分支处的主动脉,纵沟剖开,10% 甲醛固定,一部分作常规油红 O 染色。染色后进行照相,扫描图象分析及计算;另一部分备作他用。动脉粥样斑块(油红 O 染色阳性部分)由本所医学分子生物学国家重点实验室承担粥样斑块扫描(扫描仪为 stom860,由 MDCo 生产,图象分析系统采取 imagequant 分析程序)。

1.5 主动脉脂质斑块病理观察

主动脉纵形剖开后,从左侧距根部约 1.5 cm 处取约 0.8×0.4 cm² 主动脉标本,甲醛固定,常规石蜡包埋切片,HE 染色。

1.6 血清脂蛋白测定

分别于喂药 0 周、4 周、8 周和 12 周 4 次取血,前 3 次自耳动脉取血,第 4 次于颈动脉放血时取血,收集血清,-20℃ 保存备用。总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL)、载脂蛋白 A、载脂蛋白 B 均由

北京协和医院检验科自动生物化学分析仪(日本 OLYMPASAU1000)测定。

1.7 统计学分析

所得数据采用微机 SPSS 统计分析程序进行 *t* 检验及方差分析,所得数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。

2 结果

2.1 α 玉米赤霉醇抑制兔动脉粥样硬化形成的形态学观察

2.1.1 肉眼观察 正常对照组(NC)基本上未见脂质斑块沉积(图 1A, Figure 1A);高脂对照组(HCC)可见兔主动脉内膜脂质斑块沉积明显,分布广泛,从起始部位到髂动脉分支处均有大量沉积(图 1B, Figure 1B);中剂量 ZAL 组(MDA)兔主动脉内膜脂质斑块面积明显减少,仅起始部位有少量沉积(图 1C, Figure 1C);雌二醇组(E2)兔主动脉内膜脂质斑块面积明显减少,起始部及个别个体有少量沉积(图 1D, Figure 1D)。由此可见,ZAL 能明显抑制主动脉脂质斑块形成,作用与 17 β 雌二醇相似。

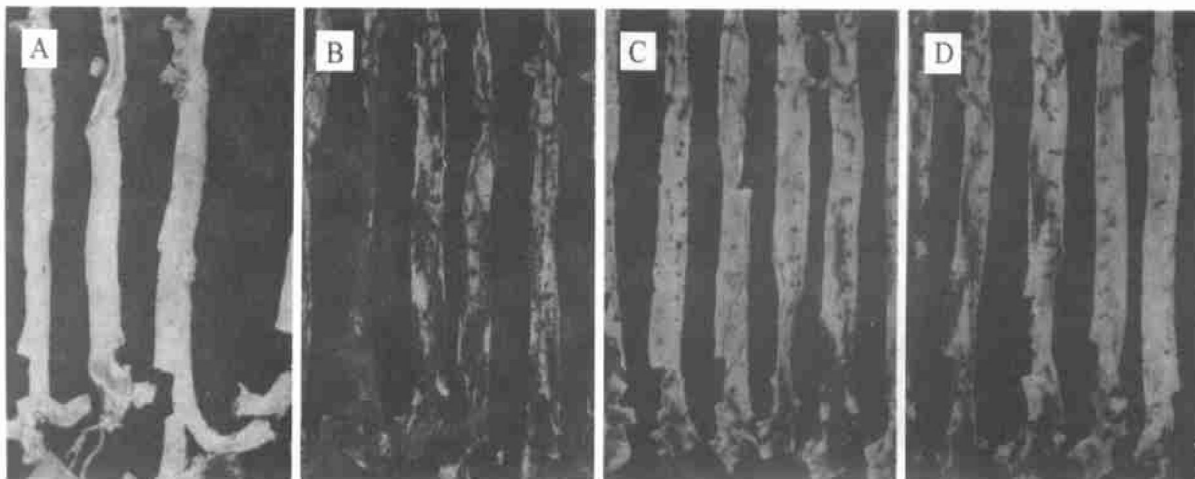


图 1. 经油红 O 染色的兔主动脉内膜肉眼观 A 为正常对照组, B 为高脂对照组, C 为中剂量 ZAL 组, D 为雌二醇组。

Figure 1. Observation of aortic intima of rabbits dyed with oil red O by naked eye.

2.1.2 斑块面积分析 主动脉内膜脂质斑块面积分析见表 1(Table 1)。发现在喂胆固醇 12 周后,高脂对照组内膜脂质斑块面积与总面积之比值最高,而假手术组和 ZAL 各组与雌二醇组均明显低于高脂对照组。

2.1.3 显微镜观察 兔主动脉石蜡切片 HE 染色在显微镜下观察发现,正常对照组(NC)内皮细胞完整,未见泡沫细胞,为正常内膜(图 2A, Figure 2A);高脂对照(HCC)内膜内皮细胞脱落、内弹力板

受压外移,可见大量泡沫细胞、脂质斑块沉积、液化坏死灶和钙化现象(图 2B, Figure 2B);中剂量 ZAL 组(MDZ)内膜内皮细胞基本完整,内弹力板轻度外移,可见少量泡沫细胞(图 2C, Figure 2C);雌二醇组(E2)内膜内皮细胞基本完整,内弹力板受压外移,可见少量泡沫细胞(图 2D, Figure 2D)。

2.2 兔血清脂质及脂蛋白含量变化

2.2.1 血清总胆固醇及甘油三酯含量的动态变化 各组家兔血清总胆固醇及甘油三酯含量的动态

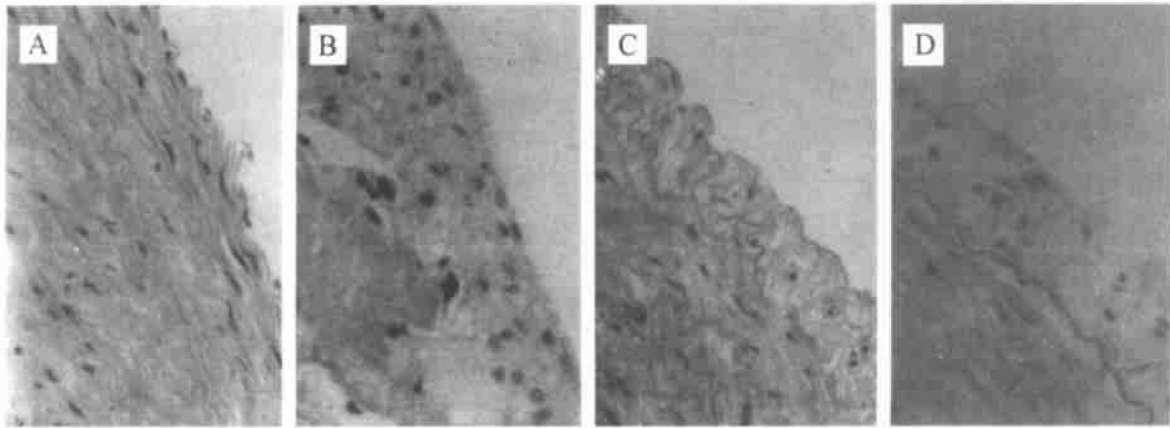


图 2. 经 HE 染色的兔主动脉内膜显微镜照片 A 为正常对照组, B 为高脂对照组, C 为中剂量 ZAL 组, D 为雌二醇组。

Figure 2. Microscopic photoes of aortic intima of rabbits dyed with HE

表 1. 喂胆固醇 12 周后各组主动脉内膜脂质斑块沉积面积与总面积之比

Table 1. After cholesterol-fed for 12 weeks, the ratio of area of aortic intimal lipid plaque to total area of aortic intima of rabbits

分 组	n	主动脉内膜脂质斑块面积 与内膜总面积之比
正常对照组	6	0.02 ± 0.003
假手术组	8	0.45 ± 0.15 ^b
高脂对照组	10	0.67 ± 0.23 ^c
小剂量 ZAL 组	8	0.61 ± 0.1 ³
中剂量 ZAL 组	10	0.10 ± 0.06 ^f
大剂量 ZAL 组	8	0.32 ± 0.10 ^e
17β 雌二醇组	10	0.12 ± 0.11 ^f

b: $P < 0.01$, 与正常对照组比较; c: $P < 0.05$, 与假手术组比较; e: $P < 0.05$, f: $P < 0.01$, 与高脂对照组比较。

变化见表 2 (Table 2)。可见喂高胆固醇饲料后, 高脂对照组 TC 和 TG 明显增高, 而假手术组和 ZAL 各组

表 2. 各组血清总胆固醇及甘油三酯含量的动态变化

Table 2. Dynamic changes of serum TC and TG levels in seven experimental groups ($\bar{x} \pm s$, mmol/L)

分 组	n	总胆固醇 (TC)				甘油三酯 (TG)			
		0 周	4 周	8 周	12 周	0 周	4 周	8 周	12 周
正常对照组	6	1.28 ± 0.39	1.33 ± 0.27	1.42 ± 0.42	1.37 ± 0.42	1.04 ± 0.66	1.09 ± 0.43	1.13 ± 0.54	1.03 ± 0.51
假手术组	8	1.47 ± 0.61	15.9 ± 8.98 ^b	16.33 ± 6.71 ^b	26.51 ± 5.17 ^b	0.84 ± 0.38	1.37 ± 0.40	2.39 ± 0.82 ^b	2.95 ± 1.67 ^b
高脂对照组	10	1.33 ± 0.48	29.95 ± 7.76 ^d	37.12 ± 7.78 ^d	49.07 ± 14.66 ^d	1.06 ± 0.32	2.27 ± 1.66	4.10 ± 1.47 ^e	6.16 ± 4.21 ^e
小剂量 ZAL 组	8	1.27 ± 0.31	18.64 ± 6.45 ^e	25.32 ± 6.54 ^e	25.32 ± 4.83 ^f	0.87 ± 0.26	2.18 ± 0.99	3.34 ± 0.17	3.35 ± 0.82
中剂量 ZAL 组	10	1.27 ± 0.48	18.09 ± 7.17 ^e	18.48 ± 11.22 ^f	28.20 ± 8.85 ^f	1.04 ± 0.47	1.23 ± 0.67	2.06 ± 1.15 ^e	2.82 ± 1.00 ^e
大剂量 ZAL 组	8	1.20 ± 0.42	17.70 ± 9.17 ^e	17.47 ± 6.00 ^f	21.83 ± 6.05 ^f	0.80 ± 0.21	1.06 ± 0.48	1.77 ± 0.85 ^f	1.83 ± 0.94 ^f
17β 雌二醇组	10	1.34 ± 0.34	18.96 ± 7.11 ^e	17.02 ± 8.35 ^f	25.83 ± 7.89 ^f	0.91 ± 0.41	0.93 ± 0.34	1.52 ± 1.44 ^f	1.81 ± 0.69 ^f

b: $P < 0.01$, 与正常对照组比较; c: $P < 0.05$, d: $P < 0.01$, 与假手术组比较; e: $P < 0.05$, f: $P < 0.01$, 与高脂对照组比较。

与 17β 雌二醇组均明显低于高脂对照组, 说明 ZAL 与 17β 雌二醇一样能降低高胆固醇饲料所致家兔血清 TC 和 TG 的升高幅度。

2.2.2 血清高密度脂蛋白胆固醇及低密度脂蛋白胆固醇含量的动态变化 各组家兔血清 HDLC 和 LDLC 含量的动态变化见表 3 (Table 3)。可见高脂对照组 LDLC 明显增高, 而假手术组和 ZAL 各组与 17β 雌二醇组均明显低于高脂对照组。HDLC 亦增高, 但各组增高幅度无明显差别。说明 ZAL 与 17β 雌二醇一样能降低高胆固醇饲料所致家兔血清 LDLC 的升高幅度, 但对 HDLC 的影响不大。

2.2.3 血清载脂蛋白 A1 和载脂蛋白 B 含量的动态变化 各组家兔血清载脂蛋白 A1 和载脂蛋白 B 含量的动态变化见表 4 (Table 4)。可见高脂对照组载脂蛋白 B 明显增高, 而假手术组和 ZAL 各组与 17β 雌二醇组均明显低于高脂对照组; 载脂蛋白 A1 在各组无明显差别。说明 ZAL 可明显抑制由高胆固醇饲料所致的载脂蛋白 B 的升高幅度, 其作用与 17β 雌二醇相似。对载脂蛋白 A1 作用不明显。

表 3. 各组血清高密度脂蛋白胆固醇及低密度脂蛋白-胆固醇含量的动态变化

Table 3. Dynamic changes of serum HDLC and LDLC levels in seven experimental groups ($\bar{x} \pm s$, mmol/L)

分 组	n	高密度脂蛋白胆固醇 (HDLC)				低密度脂蛋白胆固醇 (LDLC)			
		0 周	4 周	8 周	12 周	0 周	4 周	8 周	12 周
正常对照组	6	0.42 ± 0.15	0.41 ± 0.14	0.45 ± 0.15	0.51 ± 0.19	0.45 ± 0.23	0.42 ± 0.21	0.38 ± 0.75	0.48 ± 0.14
假手术组	8	0.54 ± 0.18	2.05 ± 0.73 ^b	2.01 ± 0.57 ^b	3.24 ± 1.26 ^b	0.44 ± 0.40	7.25 ± 4.03 ^b	7.51 ± 2.14 ^b	8.23 ± 1.91 ^b
高脂对照组	10	0.48 ± 0.23	2.00 ± 0.82	2.62 ± 0.38	3.23 ± 0.75	0.45 ± 0.20	8.48 ± 2.99	13.42 ± 2.92 ^d	16.27 ± 4.49 ^d
小剂量 ZAL 组	8	0.42 ± 0.15	2.74 ± 0.48	3.30 ± 0.99	4.32 ± 0.75	0.41 ± 0.21	8.41 ± 3.00	10.37 ± 2.40 ^e	10.29 ± 1.92 ^f
中剂量 ZAL 组	10	0.38 ± 0.18	2.53 ± 1.31	2.48 ± 0.99	3.45 ± 1.48	0.41 ± 0.26	7.90 ± 3.04	8.49 ± 2.67 ^f	9.16 ± 2.43 ^f
大剂量 ZAL 组	8	0.43 ± 0.15	3.16 ± 0.98	2.44 ± 0.50	3.72 ± 0.75	0.34 ± 0.19	8.72 ± 4.79	7.08 ± 3.05 ^f	8.79 ± 2.95 ^f
17β 雌二醇组	10	0.44 ± 0.18	2.42 ± 1.02	2.56 ± 1.03	2.90 ± 1.03	0.36 ± 0.14	7.97 ± 3.10	8.96 ± 3.02 ^f	10.84 ± 3.26 ^f

b: $P < 0.01$, 与正常对照组比较; c: $P < 0.05$, d: $P < 0.01$, 与假手术组比较; e: $P < 0.05$, f: $P < 0.01$, 与高脂对照组比较。

表 4. 各组血清载脂蛋白 A1 和载脂蛋白 B 含量的动态变化

Table 4. Dynamic changes of serum apolipoprotein A1 and apolipoprotein B levels in seven experimental groups ($\bar{x} \pm s$, g/L)

分 组	n	载脂蛋白 A1 (apolipoprotein A1)				载脂蛋白 B (apolipoprotein B)			
		0 周	4 周	8 周	12 周	0 周	4 周	8 周	12 周
正常对照组	6	0.26 ± 0.06	0.22 ± 0.04	0.28 ± 0.06	0.26 ± 0.07	0.05 ± 0.03	0.05 ± 0.04	0.04 ± 0.03	0.04 ± 0.03
假手术组	8	0.28 ± 0.01	0.33 ± 0.06 ^b	0.29 ± 0.06	0.40 ± 0.15 ^a	0.05 ± 0.04	0.26 ± 0.11 ^b	0.26 ± 0.08 ^b	0.32 ± 0.20 ^b
高脂对照组	10	0.32 ± 0.06	0.38 ± 0.08	0.37 ± 0.06	0.36 ± 0.05	0.05 ± 0.02	0.28 ± 0.11	0.56 ± 0.16 ^d	0.86 ± 0.34 ^d
小剂量 ZAL 组	8	0.25 ± 0.06	0.34 ± 0.09	0.38 ± 0.07	0.38 ± 0.05	0.04 ± 0.03	0.30 ± 0.10	0.42 ± 0.11	0.30 ± 0.10 ^f
中剂量 ZAL 组	10	0.29 ± 0.07	0.36 ± 0.10	0.34 ± 0.07	0.35 ± 0.07	0.05 ± 0.03	0.27 ± 0.11	0.36 ± 0.18 ^e	0.36 ± 0.14 ^f
大剂量 ZAL 组	8	0.23 ± 0.05	0.31 ± 0.06	0.33 ± 0.05	0.36 ± 0.06	0.03 ± 0.02	0.23 ± 0.12	0.30 ± 0.11 ^f	0.25 ± 0.12 ^f
17β 雌二醇组	10	0.31 ± 0.07	0.32 ± 0.06	0.81 ± 0.05	0.30 ± 0.07	0.04 ± 0.02	0.22 ± 0.90	0.31 ± 0.18 ^f	0.28 ± 0.18 ^f

b: $P < 0.01$, 与正常对照组比较; c: $P < 0.05$, d: $P < 0.01$, 与假手术组比较; e: $P < 0.05$, f: $P < 0.01$, 与高脂对照组比较。

3 讨论

实验证明, 植物雌激素——α 玉米赤霉醇 (Zearalanol, ZAL) 对切除卵巢家兔食饵性动脉粥样硬化具有明显的抑制作用, 这种作用与剂量有关。在 ZAL 大中小三种剂量中, 以中等剂量 [0.5 mg/(kg·d)] 为最佳, 主动脉脂质斑块面积占总面积的百分比从 67% ± 23% 降至 10% ± 6% ($P < 0.01$)。与 17β 雌二醇的降至 12% ± 11% 相比无明显差异。主动脉内膜病理改变亦明显减轻, 与血管条病变相一致。

血清脂蛋白的动态变化显示, 喂高胆固醇饲料后, 在高脂对照组除载脂蛋白 A1 外, 血清 TC、TG、HDLC、LDLC 和载脂蛋白 B 均明显升高, 随着喂高胆固醇饲料的时间延续, 升高幅度越来越明显。而在各防治组与假手术组, 血清 TC、TG、LDLC 和载脂蛋白 B 升高幅度均降低, 明显低于高脂对照组, 尤其是中大剂量 ZAL 组和雌二醇组。载脂蛋白 A1 及 HDLC 有特殊之处, 载脂蛋白 A1 在高脂对照组与各组在实验前后变化不大, 而 HDLC 在喂高胆固醇饲料后有明显增高, 但各组的增加幅度相差不大, 亦就是说, ZAL 组与

17β 雌二醇对其无明显作用; 但由于在同一时相, 在 ZAL 组及 17β 雌二醇组, LDLC 及载脂蛋白 B 比之高脂对照组较有明显降低, 因而 HDLC/LDLC 与载脂蛋白 A1/载脂蛋白 B 仍比高脂对照组有明显增高, 而 HDLC/LDLC 与载脂蛋白 A1/载脂蛋白 B 比值的降低被认为是高脂血症的重要标志, 比单纯看 HDLC 及载脂蛋白 A1 的升降更有意义。另有报道, HDLC 及载脂蛋白 A1 的升高要比其他血脂指标的升高滞后, 雌激素对 HDLC 及载脂蛋白 A1 的作用也比其他指标滞后, ZAL 也可能有这种现象, 喂高胆固醇饲料 12 周往往尚来不及反映其变化, 需要更长时间才得以显现, 在临床观察中也有这种情况, 这个问题尚有待于进一步观察。

实验结果可见, ZAL 的作用范围很广, 从小剂量到大剂量均有作用。主动脉内膜脂质斑块的抑制, 以中剂量为最佳。而对增多的血清脂蛋白的抑制作用, 以中高剂量为佳。

从上述结果我们注意到, 血脂改善的程度与主动脉内膜脂质斑块抑制程度, 并非完全平行, 如大剂量

ZAL, 对血脂改善程度较中等剂量 ZAL 为好, 但主动脉内膜脂质斑块沉积的抑制作用却是中等剂量 ZAM 更明显。另外, 尽管药物防治组对主动脉内膜脂质斑块沉积及血脂蛋白代谢障碍均有抑制作用, 但显然对脂质斑块沉积的抑制要强得多。由于本实验是在短期内大量摄入胆固醇而造成高度脂质代谢紊乱, 短期内给予 17 β 雌二醇与 ZAL, 虽然已使血脂紊乱状态得到不少调节与改善, 高血脂水平已有明显下降, 但远未达到正常水平, 仍属于“高血脂症”状态, 但此时, 主动脉内膜脂质斑块沉积的减轻已是非常明显了。这表明, ZAL 及 17 β 雌二醇抑制 As 的机理中, 调节改善血脂代谢紊乱仅能解释其中一部分, 而非全部。前几年学术界对雌激素抗 As 的研究多集中于雌激素对血脂代谢障碍的改善与调节, 而近年来认为雌激素对血管的直接保护作用更为重要^[12], 我们推测 ZAL 也是如此。近年 Ross 等^[13, 14] 提出并得到赞同的观点是“As 病变是由于血管内皮和平滑肌细胞受各种因素损害而产生的过度炎性反应性的增殖性反应。”雌激素对内皮细胞的保护, 对平滑肌细胞的增殖与迁移的抑制等机理是最重要的。本实验支持关于雌激素保护血管的功能比调节血脂代谢更为重要的观点。这种观点可以解释为什么在严重“高血脂症”状态下, 主动脉脂质斑块仍可以明显减轻, 那是因为: ZAL 及 17 β 雌二醇有力地保护了血管以致使高浓度脂质在一定时间内不易在血管内膜沉积, 也可以解释大剂量 ZAL 对内膜脂质斑块的抑制不如中等剂量 ZAL 好, 因为可能 ZAL 保护血管有一个最佳浓度, 并非浓度越大越好, 过大或过小均不利。

我们实验的另一部分也证实 ZAL 及 17 β 雌二醇能抑制兔主动脉平滑肌细胞的增殖, 抑制平滑肌的 DNA 合成、 α -mvc mRNA 及 MCP-1 mRNA 表达及胞内 Ca²⁺ 的增加等(待另文发表)。实验的另一部分观察了不同浓度 ZAL 对切除卵巢兔子宫的作用, 并与 17 β 雌二醇做比较。ZAL 作为植物雌激素, 它确实能使切除卵巢家兔子宫增大, 但增大的程度明显小于 17 β 雌二醇, 以中剂量玉米赤霉醇组为例, 其增大仅为同等剂量 17 β 雌二醇组的 1/3.5, 甚至小于正常子宫, 病理观察与受体测定也相一致, 这说明 ZAL 对子宫的刺激很小(待另文发表)。中等剂量 ZAL 对乳腺的刺激

作用也明显小于同剂量的 17 β 雌二醇(待另文发表)。在实验过程中, ZAL 组动物始终健康, 未见不良反应, 各重要脏器未见明显病理变化。

以上令人鼓舞的结果初步证实了我们的设想, 急待拓展与进一步深入研究。

[致谢] 以下老师与朋友给予我们无私而真诚的鼓励、指导、支持与技术帮助: 北京协和医院方圻教授, 卫生部副部长朱庆生医生; 北京中医药大学卢泳才教授; 北京首都儿科研究所鲁杰教授; 中国医学科学院基础医学研究所余名鹏教授、王宗立教授、陈华粹教授、许增录教授、孙仁宇教授、张晓东教授、赵雪梅、李若凡、谷淑敏、周建平、斯琴、朱国强。中国科学院院士、中国农业大学生物学院李季伦教授与孟繁静教授, 他们无偿地为本实验提供了纯化精制的 α 玉米赤霉醇, 他们关于玉米赤霉烯酮是植物中普遍存在的内源性激素的发现, 引发了我们的新思路。

[参考文献]

- [1] Steingart, RM, Packer M, Hamm P, et al. Sex differences in the management of coronary disease. *N Engl J Med*, 1991, **325**: 226-230
- [2] Stampfer MJ, Coldit YGA. Estrogen replacement therapy and coronary heart disease: a quantitative assessment of the epidemiologic evidence. *Pre Med*, 1991, **20**: 47-63
- [3] Furberg CD, Vittinghoff E, Davidson M, et al. Subgroup interactions in the heart and estrogen/progestin replacement study. *Circulation*, 2002, **105**: 917-922
- [4] Mosca L, Collins P, Herrington DM, et al. Hormone replacement therapy and cardiovascular disease: a statement for healthcare professionals from the American Heart Association. *Circulation*, 2001, **104**: 449-503
- [5] Stob M, Baldwin RS, Tuite J, Andrews FN, Gillette KC. Isolation of an anabolic uterotrophic compound from corn infected with Gibbazzella Zeae. *Nature*, 1962, **196**: 1318
- [6] Draughon FA, Churchville DC. Effect of pesticides on zearelenone production in culture and in complaints. *Phytopath*, 1985, **75**: 553-556
- [7] 傅永福. 由牛体内玉米赤霉醇的残留量的检测. 北京农业大学学报, 1991, **1**: 117-118
- [8] Scientific working group report on anabolic agents in animal production (prerelease) British Veterinary Association Congress 9 Sept 1987. (Translation of Chinese)
- [9] 李季伦, 朱彤霞, 张虎, 李宝仁, 邓泽沛, 李永生. 玉米赤霉烯酮的研究. 北京农业大学学报, 1980, **1**: 13-27
- [10] 孟繁静, 严月美, 郭玉珍, 黎洪霞, 王章存. 冬小麦越冬茎尖中的玉米赤霉烯酮. 中国科学, 1988, **12**: 1 261-266
- [11] 戴顺龄, 段金虹, 陆媛, 王世岭, 张仪华, 程锦轩, 等. NH1996 抗动脉粥样硬化作用及其机制研究 (1)-预试验小结. 中国药理学通报, 1999, **15** (5): 489
- [12] Mendelsohn ME, Karas RH. Estrogen and the blood vessel wall. *Curr Opin Cardiol*, 1994, **9**: 619-626
- [13] Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for 1990s. *Nature*, 1993, **362**: 801-809
- [14] Ross R. ell biology of atherosclerosis. *Ann Rev Physiol*, 1995, **57**: 791

(此文编辑 胡必利)